



## Lymphangiogenèse et progression tumorale

Daniel Vittet, Jean-Jacques Feige

### ► To cite this version:

Daniel Vittet, Jean-Jacques Feige. Lymphangiogenèse et progression tumorale. Bulletin du Cancer, 2007, 94 (10), pp.881-6. inserm-00202041

**HAL Id: inserm-00202041**

**<https://www.hal.inserm.fr/inserm-00202041>**

Submitted on 4 Jan 2008

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## **Lymphangiogenèse et progression tumorale.**

## **Lymphangiogenesis and tumor progression.**

Daniel VITTET<sup>1,2,3</sup>, Jean-Jacques FEIGE<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Inserm, U878, Grenoble, F-38054 France

<sup>2</sup> CEA, DSV, iRTSV, Laboratoire Angiogenèse et Physiopathologie Vasculaire, Grenoble, F-38054 France

<sup>3</sup> Université Joseph Fourier, Grenoble, F-38054 France

---

Tirés à part : D Vittet, JJ Feige  
Inserm U878, iRTSV/LAPV, CEA Grenoble, 17 rue des martyrs, 38054 Grenoble cedex 9,  
France.  
Courriel : daniel.vittet@cea.fr ; [jjfeige@cea.fr](mailto:jjfeige@cea.fr)

## **Résumé:**

De nombreuses données montrent un lien fonctionnel entre la lymphangiogenèse, l'invasion des ganglions lymphatiques par les cellules tumorales et la dissémination métastatique. Au cours de la dernière décennie, l'identification de marqueurs protéiques spécifiques des cellules endothéliales lymphatiques a permis l'étude des mécanismes régulateurs de la lymphangiogenèse et la caractérisation de son rôle dans la progression tumorale. Parmi les systèmes régulateurs, les facteurs VEGF-C et D, qui agissent via l'activation de leur récepteur VEGFR3, apparaissent jouer un rôle important dans ce processus. Des stratégies thérapeutiques ciblant spécifiquement cette voie de signalisation ou visant plus généralement à s'opposer à la lymphangiogenèse tumorale sont actuellement considérées avec pour finalité de bloquer la dissémination métastatique des cellules tumorales. Les recherches doivent cependant être poursuivies tant au plan fondamental que clinique afin d'établir la validité pronostique de la lymphangiogenèse et de valider l'efficacité des thérapies anti-lymphangiogéniques dans le traitement des cancers métastatiques.

Mots clés: Cellule endothéliale lymphatique, Lymphangiogenèse, Métastases tumorales.

## **Abstract:**

Numerous data show a functional link between lymphangiogenesis, lymph node invasion by tumoral cells and metastasis. During the last decade, the identification of lymphatic endothelial cell-specific markers has allowed the investigation of lymphangiogenesis regulatory mechanisms and the analysis of its involvement in tumoral progression. Among regulatory systems, the growth factors VEGF-C and D, that bind and activate their common receptor VEGFR3, appear to play an important role in this process. Therapeutic strategies targeting this pathway or, in a general manner, aiming at inhibiting tumoral lymphangiogenesis are now considered to block the development of tumoral metastasis. Further fundamental and clinical studies are clearly needed to establish the prognostic value of lymphangiogenesis and to validate anti-lymphangiogenic therapies in the treatment of metastatic cancers.

Key words: Lymphatic endothelial cell, lymphangiogenesis, Tumor metastasis.

## Introduction

Le système vasculaire lymphatique est longuement resté dans l'ombre de son homologue sanguin par manque de modèles expérimentaux adaptés et par manque de connaissance de marqueurs moléculaires des cellules endothéliales lymphatiques [1]. Un regain d'intérêt est apparu au cours de la dernière décennie suite à la mise en évidence de gènes impliqués dans la régulation spécifique de son développement et à l'identification de marqueurs protéiques de l'endothelium lymphatique ouvrant la voie à l'analyse de sa régulation. Ce système vasculaire hiérarchisé permet le drainage des liquides interstitiels de l'ensemble de l'organisme et leur retour vers la circulation sanguine veineuse. Le réseau des capillaires lymphatiques est connecté à la circulation sanguine par les vaisseaux pré-collecteurs, puis les vaisseaux collecteurs qui se branchent par l'intermédiaire des canaux thoraciques. Ce système vasculaire borgne et unidirectionnel présente une fonction majeure d'épuration. Il joue un rôle essentiel dans la réponse immunitaire en facilitant l'activation des défenses de l'organisme, par la mise en contact des antigènes avec les cellules du système immunitaire au niveau des ganglions lymphatiques.

Lors du développement tumoral, le système lymphatique est impliqué activement dans le processus de métastase des tumeurs solides, l'observation de l'envahissement des ganglions lymphatiques reflétant en règle générale un mauvais pronostic pour le patient cancéreux [1]. Il existe aujourd'hui un grand intérêt pour ce système cellulaire, car il pourrait prochainement être la cible de nouvelles stratégies thérapeutiques anti-tumorales.

Au cours de cette mini-synthèse, nous nous proposons de dresser un rapide état des connaissances sur le processus de lymphangiogenèse (qui définit la formation *de novo* de capillaires lymphatiques) et son impact sur la progression tumorale et la dissémination métastatique. Plusieurs questions non résolues seront également abordées et discutées.

## Marqueurs antigéniques du système lymphatique.

L'identification et la caractérisation de marqueurs protéiques des cellules endothéliales lymphatiques ont permis des avancées significatives dans l'étude de leurs fonctions physiopathologiques. L'un des premiers marqueurs identifié, VEGF-R3 (Fms-like tyrosine kinase 4, Flt4), provient des études des effets des membres de la famille du VEGF et de ses récepteurs au cours du développement embryonnaire. Le récepteur VEGF-R3 qui lie le VEGF-C et le VEGF-D a ainsi été caractérisé comme un des acteurs importants du

développement du lignage lymphatique. L'expression de ce marqueur, que l'on retrouve sur les cellules précurseurs des cellules endothéliales sanguines et lymphatiques au niveau embryonnaire, devient chez l'adulte essentiellement restreinte à l'endothélium lymphatique. Au cours du développement embryonnaire, il est admis que les cellules endothéliales lymphatiques se différencient en grande partie à partir du système veineux. Le facteur de transcription prox-1 (prospero-related homeobox-1) s'avère être le facteur qui gouverne l'engagement de la différenciation dans ce lignage au dépend du lignage sanguin. Son implication dans la régulation de l'expression de gènes comme celui codant pour le récepteur FGF-R3 a récemment été observé [2]. L'analyse comparée du transcriptome des cellules endothéliales sanguines et lymphatiques a également permis des avancées significatives dans l'identification chez l'adulte de marqueurs phénotypiques spécifiques de ces deux lignages, rendant ainsi possible l'étude de leurs mécanismes régulateurs. En plus de prox-1 et VEGF-R3, la glycoprotéine membranaire LYVE-1, sur laquelle se lient les hyaluronanes de la matrice extracellulaire, la podoplanine, la chimiokine CCL21, la neuropiline-2 ainsi que la desmoplakine présentent une expression spécifique et/ou privilégiée au niveau des cellules endothéliales lymphatiques. Plusieurs revues, auxquelles le lecteur pourra se référer, récapitulant l'ensemble des marqueurs permettant la discrimination entre l'endothélium sanguin et lymphatique ont été publiées au cours des dernières années [3] [4] [5] [6]. Il faut toutefois noter qu'aucun de ces marqueurs pris isolément ne peut permettre de discriminer sans ambiguïté les cellules endothéliales lymphatiques, car chacun d'entre eux peut être retrouvé sur d'autres types cellulaires. Ce n'est que la codistribution de plusieurs de ces marqueurs sur la même cellule qui permet d'affirmer la nature lymphatique d'une cellule endothéliale.

### **Lymphangiogenèse tumorale et dissémination métastatique.**

Les données impliquant la lymphangiogenèse dans la progression tumorale sont en pleine expansion. Au cours du développement tumoral, le système lymphatique est en effet considéré dans de nombreux cancers comme la voie primaire de la diffusion des métastases. L'invasion par les cellules tumorales du ganglion satellite proximal de la tumeur représente souvent la première étape de la formation de métastases [7]. Ceci résulte de plusieurs caractéristiques structurales de l'endothélium des capillaires lymphatiques qui sont en faveur d'un rôle majeur des vaisseaux lymphatiques dans ce processus. En effet, les capillaires lymphatiques sont dépourvus de lame basale ainsi que de jonctions serrées. Ils présentent des jonctions intercellulaires beaucoup plus lâches que l'endothélium sanguin, facilitant ainsi le

passage des cellules tumorales à l'intérieur du vaisseau. De plus les mouvements liquidiens à l'intérieur des capillaires lymphatiques sont beaucoup plus lents qu'au sein des capillaires sanguins car ils sont essentiellement sous la dépendance des compressions liées aux contractions musculaires ainsi qu'aux mouvements respiratoires. L'ensemble de ces éléments permet aux vaisseaux lymphatiques de participer au drainage des tumeurs et de constituer l'une des voies majeures de la dissémination métastatique, cause majeure de la mortalité dans les cancers [8] [9]. En effet, ce drainage permettrait de diminuer la pression des liquides interstitiels à l'intérieur de la tumeur, facilitant d'une part sa croissance en améliorant sa perfusion par le flux sanguin, et d'autre part l'échappement des cellules tumorales par l'intermédiaire des capillaires lymphatiques. De nombreux travaux laissent envisager que cette dissémination métastatique s'effectue soit par la co-optation de vaisseaux lymphatiques préexistants, soit par une néoformation de capillaires lymphatiques (lymphangiogenèse). Les mécanismes de la dissémination métastatique via les néovaisseaux lymphatiques restent cependant très controversés et pourraient être très variables d'un type de tumeur à un autre. Deux processus sont considérés: la lymphangiogenèse péri-tumorale et la lymphangiogenèse intra-tumorale. Cependant, bien que la présence d'une lymphangiogenèse intra-tumorale soit observée dans plusieurs cas de tumeurs comme les mélanomes cutanés et les carcinomes de la tête et du cou, plusieurs observations effectuées sur des tumeurs expérimentales induites chez la souris suggèrent que les vaisseaux lymphatiques intra-tumoraux ne seraient pas fonctionnels, car la pression interstitielle élevée régnant à l'intérieur de la tumeur rendrait les vaisseaux collapsés. Ainsi, le développement des vaisseaux lymphatiques en périphérie de la tumeur apparaît jouer un rôle prépondérant dans la diffusion et l'échappement des cellules tumorales. Par contre, des interactions entre les cellules endothéliales lymphatiques de la tumeur et les cellules tumorales par le biais de la libération de facteurs paracrines ne peuvent être totalement exclues.

Plusieurs analyses réalisées sur des tumeurs humaines ont montré l'existence d'une corrélation entre la lymphangiogenèse intra ou péri-tumorale et l'invasion des ganglions lymphatiques par des cellules tumorales [10]. Par ailleurs, plusieurs travaux très récents montrent que les cellules tumorales métastatiques induisent une lymphangiogenèse intra-ganglionnaire. Celle-ci précède l'invasion des ganglions par les cellules tumorales, suggérant une préparation à distance, par les cellules tumorales, du terrain pour les accueillir indépendamment de leur présence physique dans le tissu à coloniser [11] [12]. Cette lymphangiogenèse intra-ganglionnaire, dont il a été montré qu'elle pouvait être induite par le VEGF-C apparaît être un

pré-requis pour la colonisation des ganglions par les cellules tumorales et leur future dissémination [12].

Ainsi, l'ensemble de ces données montrent une corrélation entre lymphangiogenèse et dissémination métastatique.

### **Les acteurs moléculaires et cellulaires de la lymphangiogenèse.**

#### *Les molécules régulatrices de la lymphangiogenèse.*

Parmi les facteurs pro-lymphangiogeniques identifiés à ce jour, le système VEGF-C/VEGF-D/VEGF-R3 a été caractérisé comme l'un des acteurs majeurs régulant son développement [13]. L'invalidation génique du récepteur VEGFR3 conduisant à une létalité embryonnaire à E10 chez la souris montre un rôle important de ce récepteur dans le développement vasculaire. L'invalidation génique de son ligand VEGF-C est létale à E17-E19 et s'accompagne d'une agénésie du système lymphatique [13]. Par ailleurs, des souris transgéniques surexprimant VEGF-C au niveau de la peau montrent une hyperplasie du réseau de vaisseaux lymphatiques [4]. La démonstration d'un rôle de ce système ligand/récepteur et de la lymphangiogenèse dans la dissémination métastatique a été initialement mis en évidence *in vivo* chez la souris par les travaux du groupe de Michael Pepper [14]. Ces travaux ont utilisé la souris RIP-Tag, qui développe des insulinomes spontanés sans développement de métastases. Lorsque cette souris est croisée avec une souris chez laquelle l'expression du VEGF-C est ciblée sous la dépendance du promoteur de l'insuline dans le pancréas endocrine, une lymphangiogenèse tumorale peut être observée qui est accompagnée d'une dissémination métastatique de la tumeur. Ces travaux ont apporté la démonstration d'un rôle du VEGF-C dans la dissémination métastatique. Depuis, de nombreuses données sont venues corroborer cet état de fait. L'expression de VEGF-C est corrélée avec l'envahissement ganglionnaire dans plusieurs cas de tumeurs humaines [7]. Plusieurs études ont montré un rôle des VEGF-C/D dans l'invasion des ganglions lymphatiques par les cellules tumorales. Les mécanismes impliqués dans cette action (augmentation de la perméabilité ou modifications des propriétés adhésives des cellules endothéliales lymphatiques) demandent toutefois à être précisés. Une participation active de l'endothélium lymphatique pourrait s'exercer, entre autre, par la sécrétion de la chimiokine CCL21 dont les récepteurs sont présents sur certaines cellules tumorales [13]. Le VEGF-C peut aussi se lier à VEGFR2, également impliqué dans la régulation positive de la lymphangiogenèse et de l'invasion des ganglions lymphatiques par les cellules tumorales, et exercer une action pro-angiogénique. Toutefois, au contraire du

VEGF-A, qui stimule le développement de la tumeur primaire [15], le VEGF-C n'interfère pas avec la croissance tumorale [12].

D'autres effecteurs pro-lymphangiogéniques ont plus récemment été mis en évidence, à l'aide de modèles expérimentaux murins, leurs effets chez l'homme demandant à être confirmés [7]. Il s'agit des angiopoïétines-1 et -2, du FGF2, du HGF (Hepatocyte growth factor), des IGF1/2 [16], du VEGF-A et du PDGF-BB [17] [18]. Toutefois un grand nombre d'entre eux présentent un mécanisme d'action indirect passant par la régulation de l'expression du VEGF-C et/ou l'activation du récepteur VEGFR3. L'inactivation du gène de l'angiopoïétine-2 chez la souris a montré, en plus d'une interférence avec le développement des vaisseaux sanguins, des défauts dans l'organisation des capillaires lymphatiques pouvant être restaurés par l'angiopoïétine-1 [19]. La surexpression de l'angiopoïétine 1 chez la souris entraîne quant à elle le bourgeonnement et l'hyperplasie des vaisseaux lymphatiques par l'intermédiaire de la régulation de l'expression du récepteur VEGF-R3 [20]. Il apparaît donc que l'angiopoïétine-1 et l'angiopoïétine-2 exercent des fonctions redondantes lors de la lymphangiogenèse alors que ces deux facteurs présentent des actions opposées au cours de la maturation des vaisseaux sanguins. Bien que le FGF2 stimule la prolifération et la migration des cellules endothéliales lymphatiques *in vitro*, son action pro-lymphangiogénique *in vivo* résulterait d'une stimulation de la synthèse de VEGF-C et VEGF-D, puisque son action se trouve inhibée par des anticorps bloquants anti-VEGF-R3 [21]. De façon similaire l'effet du HGF apparaît partiellement dépendant de la voie de signalisation du récepteur VEGF-R3 [18]. Par contre la famille des PDGFs et en particulier le PDGF-BB stimule la lymphangiogenèse par une action directe sur les cellules endothéliales lymphatiques, indépendante de la voie de signalisation du VEGF-C, suite à l'activation des récepteurs PDGF-R $\alpha$  et  $\beta$  [22]. le PDGF-BB apparaît donc également constituer un acteur majeur de la progression tumorale de part ses actions à la fois sur la stimulation de l'angiogenèse et de la lymphangiogenèse. L'action des IGF1/2 apparaît également directe puisque non affectée en présence d'un récepteur VEGF-R3 soluble [16]. Par ailleurs, bien que le VEGF-A soit considéré comme un acteur important de l'angiogenèse, il stimule également la lymphangiogenèse par l'activation de son récepteur VEGF-R2 et la régulation de l'expression des intégrines  $\alpha 1\beta 1$  et  $\alpha 2\beta 2$  [23]. Son implication dans la diffusion métastatique et l'invasion ganglionnaire a par ailleurs été observée dans un modèle de tumeur expérimentale chez la souris [15].

Il faut toutefois préciser que malgré les avancées obtenues au cours des dernières années, les facteurs et les mécanismes régulant la lymphangiogenèse restent moins bien connus que ceux



qui contrôlent l'angiogenèse. Les mécanismes d'action des facteurs identifiés demandent à être approfondis. Par ailleurs, l'identification d'autres agents régulateurs ainsi que l'analyse des effets potentiels des autres facteurs impliqués dans l'angiogenèse demandent à être effectuée. Par exemple, l'implication de certains systèmes ligand-récepteur, comme les voies de signalisation activées par le TGF $\beta$ , les BMPs et les récepteurs ALKs, importantes dans la régulation du développement vasculaire sanguin et de l'angiogenèse, sont méconnues dans le développement du système lymphatique et la lymphangiogenèse. Par ailleurs, aucun facteur inhibiteur direct de ce processus n'a été à ce jour clairement identifié. Or, de manière similaire à la régulation de l'angiogenèse, l'existence d'inhibiteurs qui viendraient contrer les effets des agents activateurs et celle d'un "lymphangiogenic switch" contrôlant la formation des néo-capillaires lymphatiques apparaissent fort probables [17]. Il se pose ainsi la question de savoir si des mécanismes semblables sont impliqués dans l'inhibition des deux processus et si les inhibiteurs de l'angiogenèse sont également des inhibiteurs de la lymphangiogenèse ou s'il existe des inhibiteurs spécifiques pour chacun de ces systèmes. Des agents pharmacologiques, inhibiteurs des MMPs ou de la cyclo-oxygénase, ciblant des mécanismes cellulaires généraux se sont avérés efficaces dans l'inhibition de la lymphangiogenèse [17]. Une publication récente utilisant un modèle expérimental de tumeur induite chez la souris montre que l'endostatine, inhibiteur cryptique de l'angiogenèse dérivé du collagène XVIII, peut interférer avec la lymphangiogenèse et le développement des métastases ganglionnaires en inhibant la production de VEGF-C par les cellules tumorales [24]. La caractérisation de molécules présentant une double action inhibitrice de l'angiogenèse et de la lymphangiogenèse pourrait apporter des outils intéressants pour une thérapie combinée.

### *Le rôle des macrophages et des progéniteurs endothéliaux circulants dans la lymphangiogenèse.*

Le système lymphatique est impliqué dans les processus inflammatoires et des données postulent un rôle de la lymphangiogenèse dans le rejet de greffe en favorisant l'acheminement des cellules immunitaires au niveau du greffon [25]. Les réponses inflammatoires induites par les cellules tumorales apparaissent associées à la diffusion des métastases. Plusieurs travaux ont établi que les macrophages activés, qui expriment VEGF-R3, participent à la réponse lymphangiogénique, soit par transdifférenciation en s'incorporant dans l'endothélium lymphatique néoformé, soit en stimulant la formation de nouveaux capillaires lymphatiques par une expression de VEGF-C/D [26]. Ainsi, l'inhibition du processus inflammatoire

accompagnant le développement tumoral pourrait également constituer une stratégie pour s'opposer à la lymphangiogenèse et la dissémination métastatique [17].

L'existence de progéniteurs endothéliaux circulants issus de la moëlle osseuse pouvant être mobilisés pour participer à la formation de néovaisseaux sanguins est clairement établie. Leur potentiel d'utilisation en thérapie cellulaire des accidents vasculaires ischémiques apparaît d'ailleurs très prometteur [27]. Quant à la contribution de précurseurs circulants issus de la moëlle osseuse dans la lymphangiogenèse, elle reste à ce jour débattue. Il semble que des progéniteurs lymphangioblastiques existent. Une sous-population de cellules VEGFR3+/CD133+/CD34+ ayant la capacité de générer des cellules endothéliales lymphatiques a été isolé à partir de la moëlle osseuse [28]. Bien que non exclusive, cette différenciation vers le lignage lymphatique souligne la présence de progéniteurs capable d'évoluer dans cette voie de différenciation. De récentes données indiquent également une lympho-vasculogenèse à partir des cellules myéloïdes CD14+/VEGFR3+/CD31+/VEGFR2- [29]. Cependant, la fonctionnalité de ces précurseurs dans la réponse lymphangiogénique n'a pas été complètement validée pour l'instant. En effet, les travaux menés dans ce sens fournissent des résultats très variables et soulignent que la participation de cellules précurseurs lymphatiques issus de la moëlle à la constitution des néovaisseaux lymphatiques resterait faible, voire même serait inexistante en fonction du tissu considéré [30] [29]. La caractérisation d'un pool fonctionnel de cellules souches lymphatiques demande donc à être clairement établi et mérite l'intérêt car ces cellules pourraient constituer un outil de thérapie cellulaire pour, par exemple, les lymphoedèmes. Elles pourraient aussi être modifiées génétiquement et ciblées sur les néo-capillaires lymphatiques.

### **Lymphangiogenèse et perspectives thérapeutiques.**

#### *Inhibition de la lymphangiogenèse : ciblage de la voie de signalisation VEGF-C/D/VEGFR3.*

Devant les corrélations entre lymphangiogenèse et métastases, une des approches thérapeutiques envisagée est de s'opposer à la formation des vaisseaux lymphatiques péri et/ou intra-tumoraux afin de minimiser le processus d'échappement des cellules tumorales de la tumeur d'origine. De façon similaire à l'inhibition de l'angiogenèse tumorale, deux stratégies peuvent être envisagées : l'anti-lymphangiogenèse et le ciblage de la vascularisation lymphatique tumorale. Compte tenu de la mise en évidence d'un rôle majeur pour la voie de signalisation VEGFC/VEGFD/VEGFR3 dans la régulation de la lymphangiogenèse, le développement des stratégies thérapeutiques a été jusqu'à présent basé sur des tentatives d'inhibition de ce système ligand-récepteur [9] [10]. Cette idée s'avérerait d'autant plus

attractive que le VEGF-C/D stimule également l'angiogenèse tumorale [9]. Dans des modèles de tumeurs expérimentales induites chez la souris, il a ainsi été montré à l'aide d'une stratégie "VEGF-C/D-Trap" qu'un récepteur soluble VEGF-R3 fusionné au fragment constant des immunoglobulines, agissant en compétition avec le récepteur VEGFR3 membranaire présent sur l'endothélium lymphatique, pouvait inhiber la lymphangiogenèse tumorale ainsi que l'invasion métastatique des ganglions lymphatiques locaux [31] [32]. Des résultats équivalents ont été obtenus avec des anticorps bloquants dirigés soit contre le récepteur VEGFR3 soit contre ses ligands VEGF-C et VEGF-D, ou avec une approche utilisant des ARN interférents neutralisant l'expression du VEGF-C par les cellules tumorales [7]. L'ensemble de ces approches s'est avéré efficace pour inhiber l'invasion des ganglions lymphatiques par des métastases dans les modèles expérimentaux de tumorigenèse chez la souris. Une dernière stratégie visant à inhiber l'activité du récepteur VEGFR3 par des inhibiteurs de tyrosine kinase est considérée en essais cliniques bien que ces composés soient peu spécifiques et inhibent plusieurs autres kinases [9].

Toutefois, compte tenu de la diversité émergente des facteurs impliqués dans la régulation positive de la lymphangiogenèse, pour certains d'entre eux VEGF-R3-indépendants, une stratégie thérapeutique basée uniquement sur l'inhibition du système VEGF-C/D/VEGFR3 pourrait s'avérer insuffisante. Aussi, il apparaît essentiel pour être efficace de cibler un mécanisme commun à la majorité de ces facteurs régulateurs. De plus, les données récentes élargissant l'expression du récepteur VEGFR3 à d'autres types cellulaires que l'endothélium lymphatique [33] pose la question d'effets secondaires possibles d'une thérapie ciblée sur le système ligand récepteur VEGF-C/D/VEGF-R3. La question se pose également de savoir si angiogenèse et lymphangiogenèse sont des processus indépendants ou bien coordonnés lors du développement des tumeurs solides. Plusieurs cas de figure ont en effet été observés lors de la néovascularisation de la cornée de souris par des implants renfermant des facteurs de croissance, en fonction du facteur additionné à l'implant et de la période écoulée après l'implantation [17]. Devant l'existence de facteurs régulateurs communs de l'angiogenèse et de la lymphangiogenèse comme le FGF2 ou le VEGF-A, on peut également se demander si des différences existent dans les concentrations actives et les mécanismes d'action de ces facteurs sur ces deux types d'endothélium au cours de la néoformation des vaisseaux sanguins et lymphatiques tumoraux.

### Valeur pronostique de la lymphangiogenèse.

L'invasion des ganglions lymphatiques par les cellules tumorales représente un élément de diagnostic et de pronostic du développement tumoral. Dans certains cas, la présence de cellules tumorales au niveau ganglionnaire permet le diagnostic de la présence d'une tumeur primaire avant même qu'elle n'ait pu être détectée [17]. Par ailleurs, après le diagnostic établi de la présence d'une tumeur primaire, l'analyse de l'invasion du ganglion satellite dit « sentinelle » et des ganglions locaux plus distants permet de prédire le risque de développement de métastases à distance. Plusieurs études montrent des corrélations entre la densité des vaisseaux lymphatiques peri- ou intra-tumoraux et la formation de métastases intra-ganglionnaires, dans plusieurs types de cancers [6]. Toutefois, le développement d'une lymphangiogenèse péri-tumorale apparaît dans plusieurs cas associée à un meilleur taux de survie, car elle faciliterait le recrutement des cellules dendritiques et la mise en place d'une réponse immunitaire dirigée contre les cellules tumorales [6]. L'expression du VEGF-C au sein de la tumeur primitive s'est révélée dans certains cancers constituer un facteur pronostic pour le développement des métastases ganglionnaires, une corrélation directe entre l'expression de VEGF-C/D et la formation de ces métastases ayant été observée [7]. Il existe malgré tout des divergences entre les différentes études selon la localisation et le type de tumeur, selon la sélection des patients et les paramètres et méthodes de détection utilisées [6]. Ainsi, des efforts sont nécessaires pour standardiser les méthodes de quantification de la lymphangiogenèse afin de confirmer la valeur pronostique de la lymphangiogenèse dans la progression des différents types de cancers [34].

### Limites potentielles d'une thérapie anti-lymphangiogénique.

La question de l'hétérogénéité des vaisseaux lymphatiques en fonction des territoires vasculaires pourrait s'avérer un frein à court terme pour une utilisation généralisée de la thérapie anti-lymphangiogénique, car elle nécessiterait une analyse au cas par cas pour définir la stratégie moléculaire spécifique à utiliser pour chaque type de tumeur. L'hétérogénéité de l'endothélium sanguin est une réalité et des différences phénotypique et fonctionnelles entre les lits vasculaires de différents organes ont été bien caractérisées [35] [36]. Pour l'endothélium lymphatique, des variations dans l'expression de plusieurs molécules comme l'eprhine B2 et la glycoprotéine LYVE-1 ont été établies entre tubes collecteurs et capillaires lymphatiques [37]. D'autres différences, résultant d'une hétérogénéité de cet endothélium,

non identifiées à ce jour apparaissent très probables. Ainsi, la spécificité de chaque type de tumeur devra certainement être prise en compte.

Il apparaît également important de ne cibler que l'endothélium en phase active de néoformation afin de ne pas toucher les cellules endothéliales quiescentes. Comme son homologue sanguin, l'endothélium lymphatique se caractérise par une quiescence dans les conditions physiologiques [17]. Dans ce but, des travaux visant à caractériser les différences des patrons d'expression génique et protéique entre cellules endothéliales lymphatiques quiescentes et cellules endothéliales lymphatiques tumorales devraient être poursuivis. La mise en évidence de marqueurs spécifiques sur ces dernières permettrait de cibler des molécules cytotoxiques sur cet endothélium prolifératif sans risquer le développement de lymphoedèmes du fait d'une action secondaire sur les cellules endothéliales quiescentes des autres vaisseaux lymphatiques du patient.

La question se pose également de savoir quels pourrait être les effets à long terme d'une stratégie anti-lymphangiogénique et si un échappement possible pourrait être observé en réponse à un mécanisme compensateur. Enfin, l'inhibition de la lymphangiogenèse pourrait être un frein à la reconnaissance par le système immunitaire des antigènes tumoraux et donc aller à l'encontre des stratégies basées sur l'immunothérapie. Etant donné que le système lymphatique participe au drainage de la tumeur, diminuant la pression interstitielle au sein de celle-ci et améliorant sa perfusion par le flux sanguin, l'inhibition de la lymphangiogenèse pourrait également s'avérer, de façon indirecte, défavorable à l'accessibilité des drogues administrées en chimiothérapie.

### **Conclusion générale.**

Angiogenèse et lymphangiogenèse sont impliquées dans la dissémination métastatique. La part respective de ces deux processus qui est très certainement différente d'une tumeur à une autre demande toutefois à être précisée afin de pouvoir établir des stratégies thérapeutiques adéquates. Les mécanismes qui gouvernent le passage des cellules tumorales au sein des vaisseaux lymphatiques de même que ceux qui permettent la colonisation de tissus à distance demandent également à être précisés et pourraient fournir des cibles pour le développement de stratégies complémentaires à l'inhibition de la lymphangiogenèse ou le ciblage de l'endothélium lymphatique tumoral pour s'opposer à la dissémination métastatique. Pour finir, la question d'un développement coordonné ou indépendant entre angiogenèse et lymphangiogenèse en fonction des territoires vasculaires doit également être précisé afin

d'orienter les choix thérapeutiques à mettre en œuvre. Ces questions devraient trouver rapidement une réponse au cours des prochaines années.

## Références.

1. Brown P. Lymphatic system: unlocking the drains. *Nature* 2005; 436, 456-8.
2. Shin JW, Min M, Larrieu-Lahargue F, Canron X, Kunstfeld R, Nguyen L, *et al.* Prox1 promotes lineage-specific expression of fibroblast growth factor (FGF) receptor-3 in lymphatic endothelium: a role for FGF signaling in lymphangiogenesis. *Mol Biol Cell* 2006; 17, 576-84.
3. Hong YK, Shin JW, Detmar M. Development of the lymphatic vascular system: a mystery unravels. *Dev Dyn* 2004; 231, 462-73.
4. Saharinen P, Tammela T, Karkkainen MJ, Alitalo K. Lymphatic vasculature: development, molecular regulation and role in tumor metastasis and inflammation. *Trends Immunol* 2004; 25, 387-95.
5. Ji RC. Characteristics of lymphatic endothelial cells in physiological and pathological conditions. *Histol Histopathol* 2005; 20, 155-75.
6. Ji RC. Lymphatic endothelial cells, tumor lymphangiogenesis and metastasis: New insights into intratumoral and peritumoral lymphatics. *Cancer Metastasis Rev* 2006; 25, 677-94.
7. Wissmann C, Detmar M. Pathways targeting tumor lymphangiogenesis. *Clin Cancer Res* 2006; 12, 6865-8.
8. Alitalo K, Mohla S, Ruoslahti E. Lymphangiogenesis and cancer: meeting report. *Cancer Res* 2004; 64, 9225-9.
9. Achen MG, McColl BK, Stacker SA. Focus on lymphangiogenesis in tumor metastasis. *Cancer Cell* 2005; 7, 121-7.
10. Achen MG, Mann GB, Stacker SA. Targeting lymphangiogenesis to prevent tumour metastasis. *Br J Cancer* 2006; 94, 1355-60.
11. Qian CN, Berghuis B, Tsarfaty G, Bruch M, Kort EJ, Ditlev J, *et al.* Preparing the "soil": the primary tumor induces vasculature reorganization in the sentinel lymph node before the arrival of metastatic cancer cells. *Cancer Res* 2006; 66, 10365-76.
12. Hirakawa S, Brown LF, Kodama S, Paavonen K, Alitalo K, Detmar M. VEGF-C-induced lymphangiogenesis in sentinel lymph nodes promotes tumor metastasis to distant sites. *Blood* 2007; 109, 1010-7.
13. Alitalo K, Tammela T, Petrova TV. Lymphangiogenesis in development and human disease. *Nature* 2005; 438, 946-53.
14. Mandriota SJ, Jussila L, Jeltsch M, Compagni A, Baetens D, Prevo R, *et al.* Vascular endothelial growth factor-C-mediated lymphangiogenesis promotes tumour metastasis. *Embo J* 2001; 20, 672-82.
15. Hirakawa S, Kodama S, Kunstfeld R, Kajiya K, Brown LF, Detmar M. VEGF-A induces tumor and sentinel lymph node lymphangiogenesis and promotes lymphatic metastasis. *J Exp Med* 2005; 201, 1089-99.
16. Bjorndahl MA, Cao R, Burton JB, Brakenhielm E, Religa P, Galter D, *et al.* Vascular endothelial growth factor-a promotes peritumoral lymphangiogenesis and lymphatic metastasis. *Cancer Res* 2005; 65, 9261-8.
17. Cao Y. Opinion: emerging mechanisms of tumour lymphangiogenesis and lymphatic metastasis. *Nat Rev Cancer* 2005; 5, 735-43.



18. Cao R, Bjorndahl MA, Gallego MI, Chen S, Religa P, Hansen AJ, *et al.* Hepatocyte growth factor is a lymphangiogenic factor with an indirect mechanism of action. *Blood* 2006; 107, 3531-6.
19. Gale NW, Thurston G, Hackett SF, Renard R, Wang Q, McClain J, *et al.* Angiopoietin-2 is required for postnatal angiogenesis and lymphatic patterning, and only the latter role is rescued by Angiopoietin-1. *Dev Cell* 2002; 3, 411-23.
20. Tammela T, Saaristo A, Lohela M, Morisada T, Tornberg J, Norrmen C, *et al.* Angiopoietin-1 promotes lymphatic sprouting and hyperplasia. *Blood* 2005; 105, 4642-8.
21. Chang LK, Garcia-Cardena G, Farnebo F, Fannon M, Chen EJ, Butterfield C, *et al.* Dose-dependent response of FGF-2 for lymphangiogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101, 11658-63.
22. Cao R, Bjorndahl MA, Religa P, Clasper S, Garvin S, Galter D, *et al.* PDGF-BB induces intratumoral lymphangiogenesis and promotes lymphatic metastasis. *Cancer Cell* 2004; 6, 333-45.
23. Hong YK, Lange-Asschenfeldt B, Velasco P, Hirakawa S, Kunstfeld R, Brown LF, *et al.* VEGF-A promotes tissue repair-associated lymphatic vessel formation via VEGFR-2 and the alpha1beta1 and alpha2beta1 integrins. *Faseb J* 2004; 18, 1111-3.
24. Fukumoto S, Morifuji M, Katakura Y, Ohishi M, Nakamura S. Endostatin inhibits lymph node metastasis by a down-regulation of the vascular endothelial growth factor C expression in tumor cells. *Clin Exp Metastasis* 2005; 22, 31-8.
25. Kerjaschki D, Regele HM, Moosberger I, Nagy-Bojarski K, Watschinger B, Soleiman A, *et al.* Lymphatic neoangiogenesis in human kidney transplants is associated with immunologically active lymphocytic infiltrates. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15, 603-12.
26. Kerjaschki D. The crucial role of macrophages in lymphangiogenesis. *J Clin Invest* 2005; 115, 2316-9.
27. Murasawa S, Asahara T. Endothelial progenitor cells for vasculogenesis. *Physiology (Bethesda)* 2005; 20, 36-42.
28. Salven P, Mustjoki S, Alitalo R, Alitalo K, Rafii S. VEGFR-3 and CD133 identify a population of CD34+ lymphatic/vascular endothelial precursor cells. *Blood* 2003; 101, 168-72.
29. Kerjaschki D, Huttary N, Raab I, Regele H, Bojarski-Nagy K, Bartel G, *et al.* Lymphatic endothelial progenitor cells contribute to de novo lymphangiogenesis in human renal transplants. *Nat Med* 2006; 12, 230-4.
30. He Y, Rajantie I, Ilmonen M, Makinen T, Karkkainen MJ, Haiko P, *et al.* Preexisting lymphatic endothelium but not endothelial progenitor cells are essential for tumor lymphangiogenesis and lymphatic metastasis. *Cancer Res* 2004; 64, 3737-40.
31. He Y, Rajantie I, Pajusola K, Jeltsch M, Holopainen T, Yla-Herttuala S, *et al.* Vascular endothelial cell growth factor receptor 3-mediated activation of lymphatic endothelium is crucial for tumor cell entry and spread via lymphatic vessels. *Cancer Res* 2005; 65, 4739-46.
32. Lin J, Lalani AS, Harding TC, Gonzalez M, Wu WW, Luan B. Inhibition of lymphogenous metastasis using adeno-associated virus-mediated gene transfer of a soluble VEGFR-3 decoy receptor. *Cancer Res* 2005; 65, 6901-9.
33. Le Bras B, Barallobre MJ, Homman-Ludiye J, Ny A, Wyns S, Tammela T, *et al.* VEGF-C is a trophic factor for neural progenitors in the vertebrate embryonic brain. *Nat Neurosci* 2006; 9, 340-8.
34. Van der Auwera, I., Cao, Y., Tille, J. C., Pepper, M. S., Jackson, D. G., Fox, S. B, *et al.* First international consensus on the methodology of lymphangiogenesis quantification in solid human tumours. *Br J Cancer* 2006; 95, 1611-25.

- HAL author manuscript inserm-00202041, version 1
35. Aird WC. Phenotypic heterogeneity of the endothelium: I. Structure, function, and mechanisms. *Circ Res* 2007; 100, 158-73.
  36. Aird WC. Phenotypic heterogeneity of the endothelium: II. Representative vascular beds. *Circ Res* 2007; 100, 174-90.
  37. Shayan R, Achen MG, Stacker SA. Lymphatic vessels in cancer metastasis: bridging the gaps. *Carcinogenesis* 2006; 27, 1729-38.

### **Légende de figure.**

Figure 1: Représentation schématique des effecteurs de la lymphangiogenèse tumorale (modifié de [7]). EPC, cellule endothéliale progénitrice circulante.



